

О.М. Міщенко^{1,2}
О.В. Солодовник³
В.М. Дейнека³
О.М. Олешко³

¹ Запорізький державний медичний університет, Україна
² NanoPrime, м. Дембіца, Польща
Сумський державний університет, Україна


Надійшла: 24.01.2020

Прийнята: 03.03.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.1.42-49>

УДК 616.314-089.843-091.8]:615.465:620.3-022.513.2(047.31)

КЛІТИННА ВІДПОВІДЬ (ОСТЕОБЛАСТИ ТА ФІБРОБЛАСТИ) В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ТИПУ ПОВЕРХНІ ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТІВ

Mishchenko O. , Solodovnyk O. , Deineka V. , Oleshko O.  ✉ Cellular response (osteoblasts and fibroblasts) depending on the type of surface of dental implants. Zaporizhzhya State Medical University, Zaporizhzhya, Ukraine; NanoPrime, Debica, Poland; Sumy State University, Sumy, Ukraine.

ABSTRACT. Background. There are many strategies for modifying the surface of implants to create optimal conditions for the development of bone tissue. At the same time, the question of correlation of the effect of surface roughness or surface chemical composition on cell activity or osteogenesis processes remains open. **Objective.** The study of cellular mechanisms of osseointegration using cell cultures that occur after implantation of implants with a different type of alloy and the nature of their surface. **Methods.** To analyze the adhesion and cell proliferation, the resazurin reduction method was used, scanning electron microscopy was used to determine the distribution of cells on the sample surface and the type of cell interaction with surface. **Results.** Cell adhesion is observed in all studied groups, and the degree of cell adhesion is directly related to the presence of hydroxyapatite on the surface. A growing trend in the proliferation of osteoblasts is noted, while fibroblast proliferation slows down from the 3rd to the 7th day. At the same time, slow cell proliferation occurs on the surface of the implants without modification, and the percentage the reduction of resazurin does not exceed 23.5%. It should be noted that there is no difference between the types of alloys, which proves the predominance of the influence of surface topography on the proliferative activity of osteoblasts. Scanning electron microscopy on the 7th day revealed the presence of osteoblasts and fibroblasts in all studied samples. However, in the absence of hydroxyapatite, the cells are unevenly located on the surface of the sample, they are large in size and have long processes that do not have a clear orientation, and on the surface with hydroxyapatite coating there is a higher cell growth density, which predominantly has 2 processes and oriented in the same direction. **Conclusion.** The use of hydroxyapatite coating significantly increases the ability of cells to adhere to the surface of the implant. The presence of calcium and phosphorus mainly stimulates the proliferation of osteoblastic dipheron cells and almost does not affect the ability of fibroblasts to proliferate.

Key words: osseointegration, implant, osteoblasts, fibroblasts, cell adhesion, hydroxyapatite coating.

Citation:

Mishchenko O, Solodovnyk O, Deineka V, Oleshko O. [Cellular response (osteoblasts and fibroblasts) depending on the type of surface of dental implants]. Morphologia. 2020;14(1):42-9. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.1.42-49>

 Mishchenko O. 0000-0002-6378-7061,  Solodovnyk O. 0000-0003-2785-5175

 Deineka V. 0000-0002-9492-8170,  Oleshko O. 0000-0003-2439-3243

✉ o.oleshko@med.sumdu.edu.ua

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Процеси остеоінтеграції – прямого сполучення імплантату з кістковою тканиною, відбуваються внаслідок адгезії остеогенних клітин на поверхні металевої конструкції з наступним фо-

муванням органічного та мінерального матриксу кістки [1].

Успіх остеоінтеграції залежить від 2-х процесів: 1) механічної інтеграції, тобто успішної первинної фіксації імплантату та 2) взаємодії

клітин з поверхнею імплантату, які забезпечують розвиток тканин [2]. Обидва процеси є важливими та нерозривними для повного відновлення жувальної функції пацієнта. Порушення процесів остеоінтеграції, може бути наслідком розвитку післяопераційних ускладнень.

Існує безліч стратегій модифікації поверхні імплантатів для створення оптимальних умов для розвитку кісткової тканини. Класичним підходом є використання кальцій-фосфатних покриттів.

Пошук в реферативній базі PubMed показав наявність більше 10 000 публікацій за останні 15 років, які присвячені вивченню ефективності кальцій-фосфатних покриттів. Доведений вплив таких покриттів на остеоінтеграцію, активність остеогенних та мезенхімальних клітин, вплив на диференціацію останніх в остеоласти тощо.

Додаткове включення антибактеріальних засобів, зокрема срібла, може забезпечити зменшення бактеріальних ускладнень. Наприклад, покриття з гідроксиапатитом, леговане Ag_2O і SrO , напіляли за допомогою плазмового наплення на поверхню титану. Цікаво, що срібло було високоефективним проти *P. aeruginosa*, але його виділення було згубним для остеобластів. Додавання SrO до покриття нівелювало цей негативний ефект [3-4].

В іншому дослідженні використання наночасточок цирконію для модифікації поверхні імплантатів призвело до зростання абсорбції фібриногену та його зв'язок з поверхнею клітин остеогенного диферону порівняно зі звичайною машинною обробкою імплантату [5]. Patelli A. et al. [6] сформували на поверхні імплантатів 220 нм гранули кремнію, інкорпорованого в PLGA, що призвело до зростання адгезії остеобластів на 20% у порівнянні з комерційними імплантатами. Kong F et al. [7] довели здатність поверхні з $nano-TiO_2$ з інкорпорованим гідроксиапатитом стимулювати ріст кісткової тканини на поверхні імплантату *in-vivo*, що призвело до більш стабільної фіксації конструкції.

Окрім активації остеогенних клітин, нанорозмірна поверхня здатна до стимуляції росту епітеліальної та сполучної тканини. В дослідженнях Xu R. et al. [8] була проведена модифікація поверхні за допомогою плазмової електроокисації, а після цього із застосуванням методу «selective laser melting» були створені нанорозмірні патерни на кальцій-фосфатному покритті. В дослідженні доведено, що така модифікація здатна посилювати проліферацію епітеліальних клітин та фібробластів, а також призводити до зростання експресії їх генів.

При цьому залишається відкритим питання, щодо методів модифікації та величини шорсткості поверхні. Так, дуже важко відрізнити силу впливу шорсткості чи хімічного складу поверхні на активність клітин та процеси остеогенезу. В деяких дослідженнях автори виявили негативну

кореляцію між шорсткістю і активністю процесів остеоінтеграції. Так, Borsari et al. [9] досліджували поверхню з Ra 12 мкм та 18 мкм з гідроксиапатитним покриттям. Через 12 тижнів автори не виявили різниці між групами, проте необроблена поверхня показала наявність більшої площі інтеграції кісткової тканини. Savarino et al. [10] досліджували 2 поверхні з розмірами 5,9 та 22,5 мкм з та без НАР покриття. Поверхні, які не були покриті гідроксиапатитом в даному дослідженні показали перевагу над модифікованими.

Для розуміння впливу даних факторів необхідно провести окремих аналіз. Так, ряд досліджень довели позитивний вплив мікрометрового рівня модифікації поверхні із застосуванням кальцій-фосфатних покриттів, проте інші дослідження не показали чіткої кореляції.

Мета

Вивчення реакції клітин остеобластичного та фібробластичного диферонів в залежності від типу поверхні імплантатів.

Матеріали та методи

Для проведення дослідження з культурами клітин були виготовлені металеві диски різних типів сплавів з відповідними поверхнями (табл. 1) діаметром 12 мм та висотою 10 мм. В експерименті були задіяні первинні культури остеобластів (зі склепіння черепа) та фібробластів (з дерми) лабораторних щурів. Клітини були отримані методом експлантів, контроль лінії відбувся за допомогою флуоресцентної мікроскопії з антитілами до поверхневих антигенів відповідних ліній клітин.

Перед проведенням експерименту всі зразки стерилізували методом автоклавування ($121^{\circ}C$, 1,5 Атм, 1 година) та поміщали у 24-луночний планшет. До всіх зразків додавали Fetal Bovine Serum (FBS; Invitrogen,) у середовищі Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Invitrogen, cat. no. 11960) на 24 години. Преінкубація зразків необхідна для моделювання взаємодії поверхні імплантату з білковим середовищем. Через 24 години середовище видаляли з лунок та замішували 2 ml DMEM з 10 % Fetal Bovine Serum, а також додавали 2 mM L-glutamine (Invitrogen, cat. no. 25030), 50 units/mL penicillin та 50 mg/mL streptomycin (Invitrogen, cat. no. 15070).

В експерименті використовувались первинні культури остеобластів та фібробластів, отримані в лабораторії клітинних культур Сумського державного університету. На поверхню кожного зразка додавали 10^5 клітин відповідного типу (клітини висівали окремо) після чого планшет поміщали в CO_2 інкубатор в якому підтримувалась температура $37^{\circ}C$, волога 60% та вміст CO_2 на рівні 5%. Культуральне середовище змінювали кожні 3 дні під час всього терміну проведення експерименту. Всі експерименти повторювали 3 рази.

Для аналізу адгезії та динаміки росту клітин

використовували метод редукції резазурину в терміни 1, 3 та 7 днів від початку експерименту. Resazurin sodium salt (Sigma) застосовували в якості основного реагенту, який під дією ферментних систем живих клітин перетворюється на резофурін та втрачає оптичну щільність. 1 мл резазурину додавали до кожної лунки та проводили інкубацію розчину упродовж 4 годин. Після цього 200 мкл розчину аналізували за допомогою

колориметричного планшетного рідера (Multiskan FC Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific) при довжині хвилі 620 нм. Відсоток активних клітин вираховували як відсоток від абсорбції вихідного розчину резазурину. В якості позитивного контролю використовували результати адгезії та проліферації клітин на TCP (культуральний пластик).

Таблиця 1
Типи сплавів та характер поверхні імплантатів, що були задіяні в експерименті

№	Тип сплаву	Характер поверхні
1	Титановий сплав BT-6 (TiVT6)	SLA «Sand-blasted, Large grit, Acid-etched» (грубозерниста піскоструминна обробка та травлення кислотою)
2	Цирконієвий сплав КТЦ-125	SLA «Sand-blasted, Large grit, Acid-etched» (грубозерниста піскоструминна обробка та травлення кислотою)
3	Цирконієвий сплав КТЦ-125	Двошарове покриття, що складається з шару кальцій термічного цирконію та шару гідроксиапатиту з $Ca_3(PO_4)_2$ у співвідношенні 60/40% нанесене шляхом вибивання потоком плазми з мішені
4	β (Ti-Zr) сплав	SLA «Sand-blasted, Large grit, Acid-etched» (грубозерниста піскоструминна обробка та травлення кислотою)
5	β (Ti-Zr) сплав	Двошаровим покриттям, яке складається з двох шарів: β (Ti-Zr) сплав та гідроксиапатит з $Ca_3(PO_4)_2$ у співвідношенні 60/40% нанесені шляхом вибивання потоком плазми з мішені

Для аналізу розподілу клітин на поверхні зразка та типу взаємодії клітин з поверхнею використовували метод растрової електронної мікроскопії. Так, на 7-му добу експерименту з кожної лунки видаляли культуральне середовище та фіксували клітини за допомогою 2,5% глутарового альдегіду. Зневоднення зразків проводили за допомогою спиртів висхідної концентрації (від 60% до 100%), після чого зразки покривали золотом (30–40 нм) в вакуумному універсальному пості (ВУП-5). Дослідження поверхні зразків проводили за допомогою мікроскопу Hitachi TM-3000 (прискорююча напруга - 15 kV).

Отримані цифрові дані оброблялися методом варіаційної статистики за допомогою програми для обробки статистичної інформації IBM SPSS Statistics 21 з використанням параметричних методів (порівняння середніх за допомогою t-тесту). Для з'ясування типу розподілу даних використовувались діаграми з кривою нормального розподілу (Колокол Гауса) та тест Колмогорова–Смирнова. За умов доведення гіпотези про нормальність розподілу даних, порівняння показників в різних серіях здійснювали з використанням критерію Стьюдента. Відмінності вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95% ($p \leq 0,05$).

Результати та їх обговорення

Аналізуючи дані редукції резазурину на 1 добу після посіву клітин, необхідно зазначити наявність їх адгезії на всіх досліджуваних поверхнях. Так, відсоток адгезії остеобластів становив від 34,1% до 66,5%. При цьому в досліджених

групах він сильно відрізнявся. Найменший відсоток клітин, які прикріпились до поверхні, спостерігали в групах без гідроксиапатитного покриття, при цьому достовірної різниці між типом сплаву не спостерігали (рис. 1). Різниця в адгезії з TCP (культуральний пластик) становила до 80% (у групі з BT-6). При цьому, в групах, які мали гідроксиапатитне покриття відсоток адгезії достовірно не відрізнявся від позитивного контролю (TCP).

Отже, ступінь адгезії мала прямий зв'язок з наявністю на поверхні зразків гідроксиапатиту. Наявність останнього дозволяла більш ефективно осідати білкам з культурального поживного середовища та закріплюватись на поверхні зразка як за допомогою поверхневого натягу, так і за допомогою хімічного зв'язку. Білки, які мають специфічний RGD-domain (в тому числі альбуміни, присутні в культуральному середовищі), здатні специфічно з'єднуватись з поверхневими рецепторами остеобластів і стимулювати їх проліферацію. Окрім цього, остеобласти здатні до прямої адгезії на поверхні кальцій-фосфатних з'єднань.

Аналіз проліферативної активності остеобластів через 3 та 7 діб від початку культивування свідчить про їх активний ріст та проліферацію в групі з кальцій-фосфатним покриттям (рис. 1). Динаміка зростання кількості клітин має лінійний характер та відповідає проліферативній активності на поверхні культурального пластика (TCP). Таким чином, можна стверджувати, що наявність гідроксиапатиту стимулює проліфера-

цію клітин остеобластичного диферону. При цьому на поверхні імплантатів без модифікації відбувається повільна проліферація клітин, відсоток зростання редуції резазурину не перевищує 23,5%, що свідчить про низький проліфера-

тивний потенціал. Слід зауважити, що різниця між типами сплавів відсутня, що доводить переважання впливу топографії поверхні на проліферативну активність остеобластів.

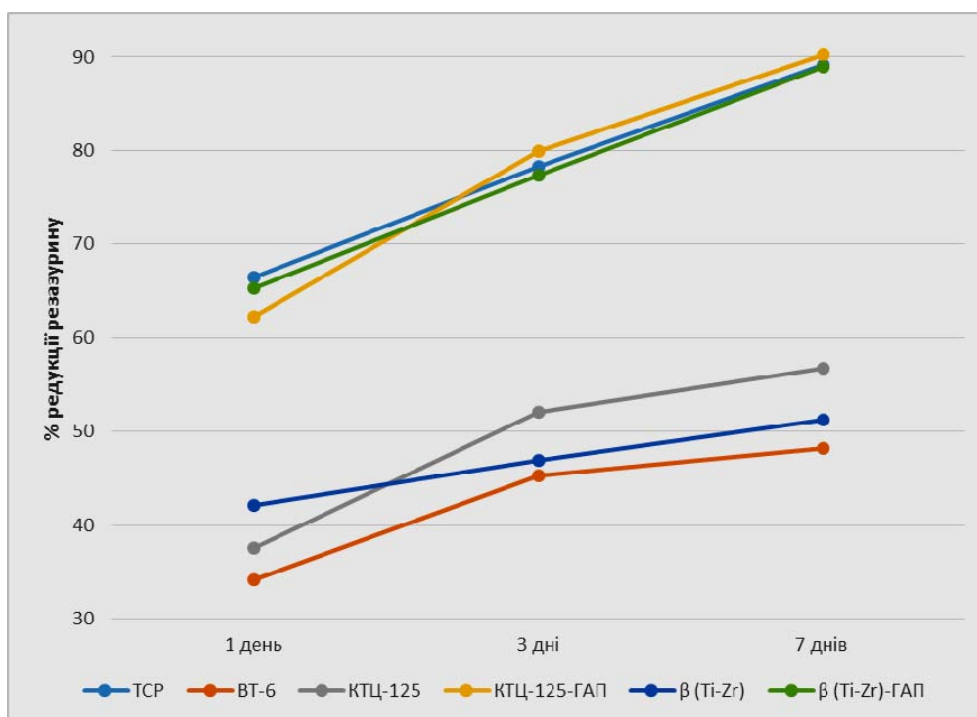


Рис. 1. Динаміка редуції резазурину остеобластами через 1, 3 та 7 днів від початку експерименту.

Адгезія фібробластів до поверхні, модифікованої гідроксиапатитом поверхні відбувалася на рівні позитивного контролю, проте кількість клітин за даними редуції резазурину на 1-шу добу була нижчою у порівнянні з остеобластичним дифероном. Як і для остеобластів, відсоток сполучнотканинних клітин, які адгезувались на поверхні немодифікованих сплавів, був достовірно меншим. Різниця при цьому досягала 50% для сплаву КТЦ-125 (рис. 2). На відміну від остеобластів, на 3-тю та особливо 7-му добу значного зростання кількості клітин на поверхні зразків не відбувалося, що особливо помітно в останній термін спостереження. На 7-му добу відсутня достовірна різниця ($p \geq 0.05$) між кількістю клітин на поверхні β (Ti-Zr) сплаву без гідроксиапатиту та сплавами, які мають кальцій-фосфатне покриття. При цьому кількість живих клітин на поверхні культурального пластика прогресивно зростала і була достовірно вищою ніж у всіх експериментальних групах.

Порівнюючи динаміку проліферації остеобластів та фібробластів на поверхні сплавів з гідроксиапатитним покриттям слід відмітити майже однакову здатність до адгезії зазначених клітин (рис. 3). Зважаючи на попередню інкубацію зразків у 20% розчині фетальної бичачої сироватки, даний феномен може бути пояснений наявністю

сорбованого білка на поверхні імплантатів. При цьому здатність до адгезії на модифікованих зразках є значно вищою у порівнянні з немодифікованими імплантатами.

Проте, вже на 3-тю добу спостереження відсоток остеобластів є значно вищим у порівнянні з кількістю фібробластів, а кількість останніх стає меншою на 23-29% ніж остеогенна популяція на 7-му добу спостереження. Аналізуючи графік редуції резазурину (рис. 3) можна відзначити зростаючий тренд проліферації остеобластів, в той час як тренд проліферації фібробластів уповільнюється з 3-ї до 7-ї доби.

Таким чином, можна зробити висновок, що при наявності кальцій-фосфатного покриття відбувається прискорена проліферація остеогенних клітин. При взаємодії покриття з біологічними рідинами, в тому числі з культуральним середовищем, відбувається вивільнення іонів кальцію та фосфору, які є натуральними стимуляторами проліферації клітин остеогенного диферону, в тому числі й остеобластів.

Аналізуючи дані растрової електронної мікроскопії на 7-му добу культивування клітин слід відмітити наявність остеобластів та фібробластів на всіх досліджуваних зразках. При цьому можна виділити дві групи зразків – без покриття та з гідроксиапатитом на поверхні металевих імплан-

татів. За відсутності гідроксиапатиту клітини нерівномірно розташовані на поверхні зразка, відрізняються більшими розмірами та наявністю довгих відростків, які не мають чіткої орієнтації. При цьому щільність клітин на поверхні β (Ti-Zr) сплаву є дещо вищою, а клітини частіше анастомозують між собою довгими відростками (рис. 4 А-С).

За умов наявності гідроксиапатитного покриття на поверхні зразків відмічається значно вища щільність росту клітин, які переважно мають 2 відростки, орієнтовані в одному напрямі (рис. 4 D-E). Можна виділити ізогенні групи клітин, які тісно анастомозують, інколи утворюючи симпласт (рис. 4 виділення колом).

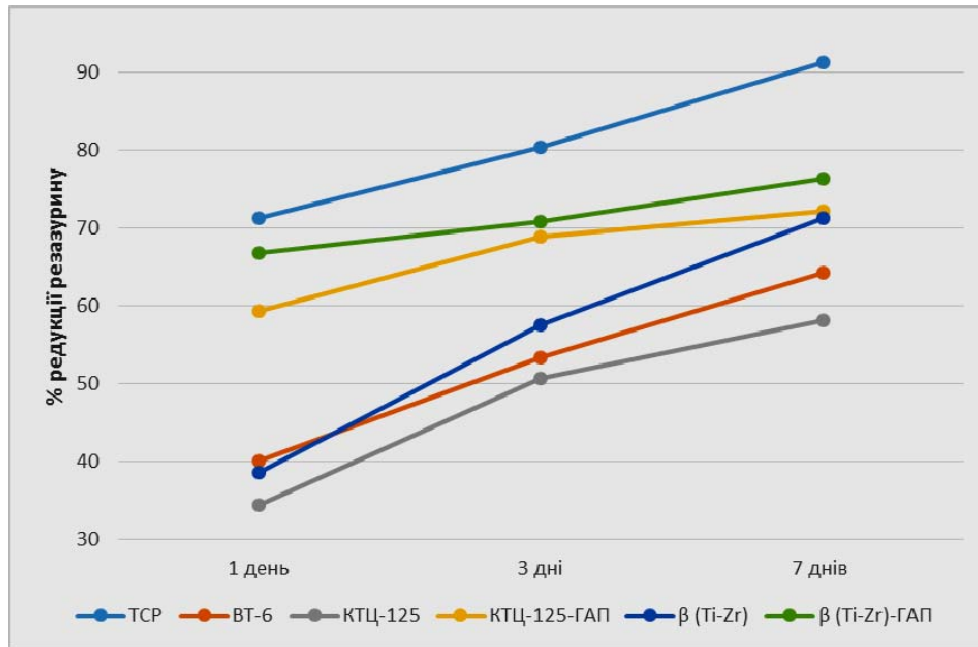


Рис. 2. Динаміка редукції резазурину фібробластами через 1, 3 та 7 днів від початку експерименту.

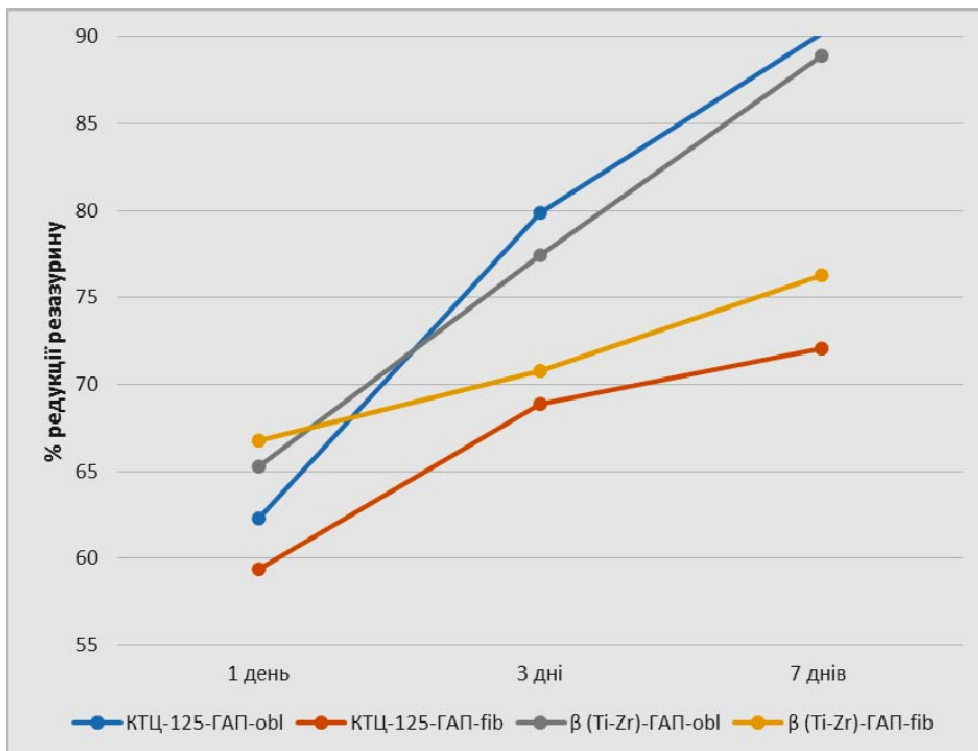


Рис. 3. Динаміка редукції резазурину остеобластами (obl) та фібробластами (fib) на поверхні зразків з гідроксиапатитним покриттям через 1, 3 та 7 днів від початку експерименту.

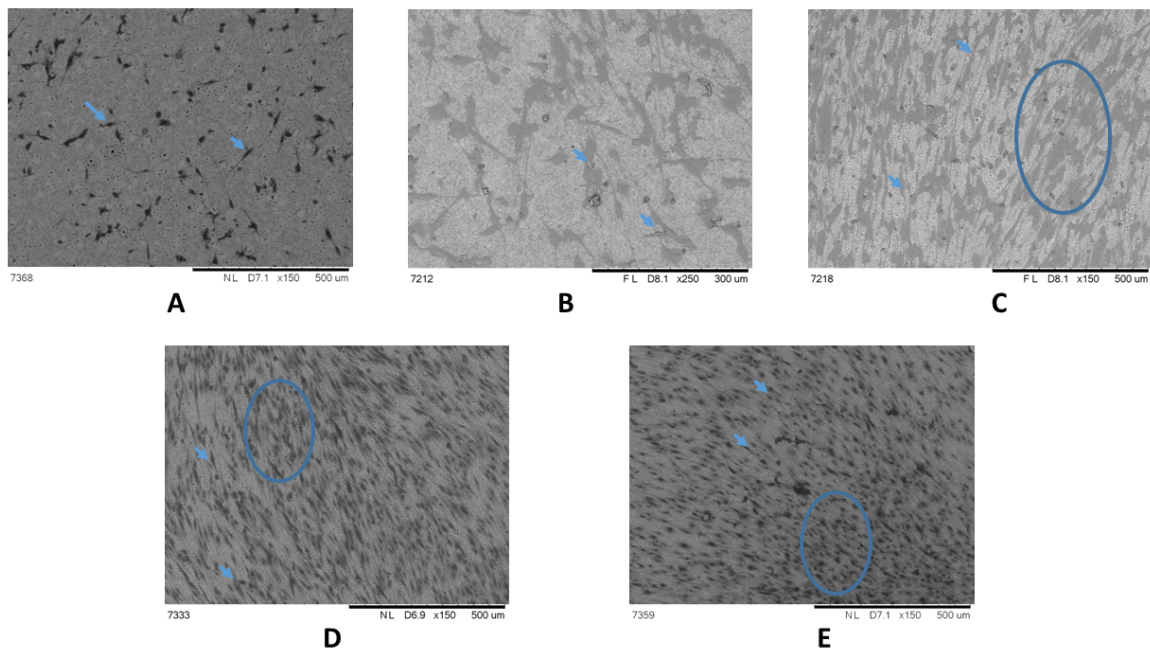


Рис. 4. Растрова електронна мікроскопія поверхні зразків на 7-му добу після культивування остеобластів. Стрілками позначені окремі клітини на поверхні зразків, суцільною лінією – групи клітин, які анастомозують між собою (А - ВТ-6; В - КТЦ-125; С - β (Ti-Zr); D - КТЦ-125-ГАП; Е - β (Ti-Zr)-ГАП).

При культивуванні фібробластів на поверхні металевих сплавів, за допомогою растрової електронної мікроскопії на 7-му добу відмічається нерівномірний ріст клітин в групі імплантів без гідроксиапатитного покриття. Клітини мають звичайну витягнуту веретеноподібну форму та розташовуються хаотично на поверхні зразків (рис. 5 А-С). При цьому відмічається наявність

клітин округлої форми невеликого діаметру, що є ознакою їх загибелі. Такий фенотип клітин був відсутній при культивуванні остеобластів. На поверхні зразків з гідроксиапатитним покриттям відмічається більш щільний ріст клітин, але при цьому помітна нерівномірність їх розподілу як на сплаву КТЦ-125, так і β (Ti-Zr) сплаву (рис. 5 D-Е).

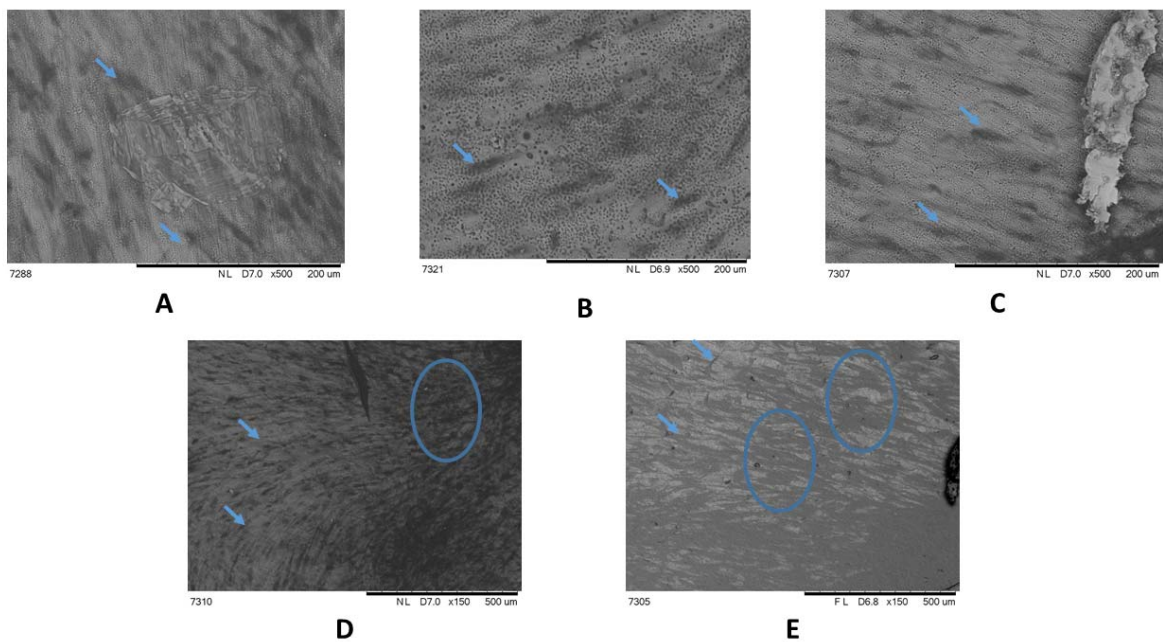


Рис. 5. Растрова електронна мікроскопія поверхні зразків на 7-му добу після культивування фібробластів. Стрілками позначені окремі клітини на поверхні зразків, суцільною лінією – групи клітин, які анастомозують між собою (А - ВТ-6; В - КТЦ-125; С - β (Ti-Zr); D - КТЦ-125-ГАП; Е - β (Ti-Zr)-ГАП).

Висновки

1. Металеві сплави, що широко використовуються для виготовлення дентальних імплантатів мають достатню адгезивну здатність у відношенні як остеобластів, так і фібробластів.

2. Використання гідроксиапатитного покриття значно підвищує здатність клітин до адгезії на поверхні імплантату.

3. Наявність кальцію та фосфору є чинником, який переважно стимулює проліферацію клітин остеобластичного диферону та майже не впливає на здатність фібробластів до проліферації.

Перспективи подальших розробок

Наступні дослідження пов'язані з вивченням ультраструктурних особливостей реакції клітин різних диферонів в залежності від типу поверхні та властивостей імплантатів.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дані дослідження виконано в рамках Міжнародного гранту H2020 Marie Skłodowska-Curie Actions (NanoSurf 777926), а також НДР Міністерства освіти і науки України № 0119U100770 та № 0119U100823.

Літературні джерела

References

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981;10(6):387-416.

2. Mas-Moruno C, Espanol M, Montufar EB, Mestres G, Aparicio C, Gil FJ, Ginebra MP, authors; Taubert A, Mano JF, Rodríguez-Cabello C, editors. *Biomaterials Surface Science.* Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2013:337-74.

3. Besinis A, Hadi SD, Le HR, Tredwin C, Handy RD. Antibacterial activity and biofilm inhibition by surface modified titanium alloy medical implants following application of silver, titanium dioxide and hydroxyapatite nanocoatings. *Nanotoxicology.* 2017;11(3):327-38.

4. Surmeneva MA, Sharonova AA, Chernousova S, Prymak O, Loza K, Tkachev MS, Shulepov IA, Epple M, Surmenev RA. [Incorporation of silver nanoparticles into magnetron-sputtered calcium phosphate layers on titanium as an antibacterial coating]. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2017;156:104-13. Russian.

5. Rottmar M, Müller E, Guimond-Lischer S, Stephan M, Berner S, Maniura-Weber K. Assessing the osteogenic potential of zirconia and titanium surfaces with an advanced in vitro model. *Dent Mater.* 2019;35(1):74-86.

6. Patelli A, Mussano F, Brun P, Genova T, Ambrosi E, Michieli N, Mattei G, Scopece P,

Moroni L. Nanoroughness, Surface Chemistry, and Drug Delivery Control by Atmospheric Plasma Jet on Implantable Devices. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018;10(46):39512-23.

7. Kong F, Nie Z, Liu Z, Hou S, Ji J. Developments of nano-TiO₂ incorporated hydroxyapatite/PEEK composite strut for cervical reconstruction and interbody fusion after corpectomy with anterior plate fixation. *J Photochem Photobiol B.* 2018;10(187):120-5.

8. Xu R, Hu X, Yu X, Wan S, Wu F, Ouyang J, Deng F. Micro-/nano-topography of selective laser melting titanium enhances adhesion and proliferation and regulates adhesion-related gene expressions of human gingival fibroblasts and human gingival epithelial cells. *Int J Nanomedicine.* 2018;4(13):5045-57.

9. Borsari V, Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Consolo U, Chiusoli L. Osteointegration of titanium and hydroxyapatite rough surfaces in healthy and compromised cortical and trabecular bone: in vivo comparative study on young, aged, and estrogen-deficient sheep. *J Orthop Res.* 2007;9(25):1250-60.

10. Savarino L, Fini M, Ciapetti G, Cenni E, Granchi D, Baldini N. Biologic effects of surface roughness and fluorhydroxyapatite coating on osteointegration in external fixation systems: an in vivo experimental study. *J Biomed Mater Res A.* 2003;66(3):652-61.

Міщенко О.М., Солодовник О.В., Дейнека В.М., Олешко О.М. Клітинна відповідь (остеобласти та фібробласти) в залежності від типу поверхні дентальних імплантатів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Існує безліч стратегій модифікацій поверхні імплантатів для створення оптимальних умов для розвитку кісткової тканини. При цьому залишається відкритим питання щодо кореляції впливу шорсткості чи хімічного складу поверхні на активність клітин чи процеси остеогенезу. **Мета.** Вивчення клітинних механізмів остеоінтеграції із застосуванням культур клітин, що відбуваються після вживлення імплантатів з різним типом сплаву та характером їх поверхні. **Методи.** Для аналізу адгезії та динаміки росту клітин використовували метод редукції резазурину, а для визначення розподілу клітин на поверхні зразка та типу взаємодії клітин з поверхнею - метод растрової електронної мікроско-

пії. **Результати.** Адгезія клітин спостерігається у всіх досліджуваних групах, при чому ступінь їх адгезії має прямий зв'язок з наявністю на поверхні гідроксиапатиту. Відзначається зростаючий тренд проліферації остеобластів, в той час проліферація фібробластів уповільнюється з 3-ї до 7-ї доби. При цьому на поверхні імплантатів без модифікації відбувається повільна проліферація клітин, а відсоток зростання редуції резазурину не перевищує 23,5%. Слід зауважити, що різниця між типами сплавів відсутня, що доводить переважання впливу топографії поверхні на проліферативну активність остеобластів. Растрова електронна мікроскопія на 7-му добу виявила наявність остеобластів та фібробластів на всіх досліджуваних зразках. Проте за відсутності гідроксиапатиту клітини нерівномірно розташовані на поверхні зразка, відрізняються більшими розмірами та наявністю довгих відростків, які не мають чіткої орієнтації, а на поверхні з гідроксиапатитним покриттям відмічається значно вища щільність росту клітин, які переважно мають 2 відростки, орієнтовані в одному напрямі. **Підсумок.** Використання гідроксиапатитного покриття значно підвищує здатність клітин до адгезії на поверхні імплантату. Наявність кальцію та фосфору переважно стимулює проліферацію клітин остеобластичного диферону та майже не впливає на здатність фібробластів до проліферації.

Ключові слова: остеоінтеграція, імплантат, остеобласти, фібробласти, адгезія клітин, гідроксиапатитне покриття.

Мищенко О.Н., Солодовник А.В., Дейнека В.М., Олешко А.Н. Клеточный ответ (osteoblastы и фибробласты) в зависимости от типа поверхности дентальных имплантатов.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Существует множество стратегий модификаций поверхности имплантатов для создания оптимальных условий для развития костной ткани. При этом остается открытым вопрос о корреляции влияния шероховатости или химического состава поверхности на активность клеток или процессы остеогенеза. **Цель.** Изучение клеточных механизмов остеоинтеграции с применением культур клеток, происходящих после вживления имплантатов с различным типом сплава и характером их поверхности. **Методы.** Для анализа адгезии и динамики роста клеток использовали метод редуции резазурин, а для определения распределения клеток на поверхности образца и типа взаимодействия клеток с поверхностью – метод растровой электронной микроскопии. **Результаты.** Адгезия клеток наблюдается во всех исследуемых группах, причем степень их адгезии имеет прямую связь с наличием на поверхности гидроксиапатита. Отмечается растущий тренд пролиферации остеобластов, в то время пролиферация фибробластов замедляется с 3-х по 7-е сутки. При этом на поверхности имплантатов без модификации происходит медленная пролиферация клеток, а процент роста редуции резазурин не превышает 23,5%. Следует заметить, что разница между типами сплавов отсутствует, что доказывает преобладание влияния топографии поверхности на пролиферативную активность остеобластов. Растровая электронная микроскопия на 7-е сутки выявила наличие остеобластов и фибробластов на всех исследуемых образцах. Однако при отсутствии гидроксиапатита клетки неравномерно расположены на поверхности образца, отличаются большими размерами и наличием длинных отростков, не имеющие четкой ориентации, а на поверхности с гидроксиапатитным покрытием отмечается более высокая плотность роста клеток, которые преимущественно имеют 2 отростка и ориентированные в одном направлении. **Итог.** Использование гидроксиапатитного покрытия значительно повышает способность клеток к адгезии на поверхности имплантата. Наличие кальция и фосфора преимущественно стимулирует пролиферацию клеток остеобластического диферона и почти не влияет на способность фибробластов к пролиферации.

Ключевые слова: остеоинтеграция, имплантат, остеобласты, фибробласты, адгезия клеток, гидроксиапатитное покрытие.